



Histologiske forandringer efter eksperimentel infektions med plasmacytose virus

Jensen, Trine Hammer; Chriél, Mariann; Hansen, Mette Sif

Published in:
Faglig Årsberetning

Publication date:
2017

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Jensen, T. H., Chriél, M., & Hansen, M. S. (2017). Histologiske forandringer efter eksperimentel infektions med plasmacytose virus. *Faglig Årsberetning*, 2017, 77-82. <https://www.kopenhagenfur.com/da/pelsdyravl/fagligt-og-forskning/faglige-aarsberetninger/>

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Sundhed

HISTOLOGISKE FORANDRINGER EFTER EKSPERIMENTEL INFEKTION MED PLASMACYTOSE VIRUS

Af Trine Hammer Jensen, National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Høngvej 2, DK-8200 Aarhus. Department of Chemistry and Bioscience, Aalborg University, Frederik Bajers Vej 7H, DK-9100 Aalborg, Denmark. Aalborg Zoo, Mølleparkvej 63, DK-9000 Aalborg.
Mariann Chriél, Mette Sif Hansen, National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Kemitorvet, DK-2800 Kgs. Lyngby, Denmark

Sammendrag

Formålet med dette studie var at beskrive den histologiske læsionsudvikling af kronisk eksperimentel infektion med plasmacytose virus (AMDV stammen, Sæby/DEN/799.1/05). Forsøget varede 6 måneder, hvor naturlig infektion i safir mink forløb parallelt med den eksperimentelle infektion i brune mink. Infektionen resulterede kun i mindre uspecifikke kliniske symptomer såsom nedsat appetit, blød eller unormal farvet fæces især indenfor de første 8 uger efter AMDV inokulation. Obduktionerne viste kun få forandringer hovedsagelig lokaliseret i lever, milt og nyre. De histologiske fund var primært infiltrationer af mononukleære celler i lever, nyre, hjerne, færre lymfocytter og øget antal plasmaceller i lymfeknuder og milt. Alle forandringerne var typiske for plasmacytose og lignede fund ved andre AMDV stammer. Der var ingen sammenhæng mellem forandringer og tidspunktet for inokulation. Studiet bekræfter at diagnostik af plasmacytose (AMDV Sæby/DEN/799.1/05) kræver serologisk eller PCR-undersøgelse eller en kombination af begge. Dette arbejde er publiceret i detaljer i Acta Vet Scand 2016, 58:35.

Jensen, TH., Chriél, M., Hansen, MS. 2018. Histologiske forandringer efter eksperimentel infektion med plasmacytose virus. Faglig årsberetning 2017, 77-82. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Abstract

The aim of this study was to give a histopathological description of the progression of a chronic experimental infection with a currently circulating Danish strain of AMDV, Sæby/DEN/799.1/05.

This experimental AMDV infection resulted in only minor unspecific clinical signs (decreased appetite and soft or discolored feces) mostly within the first eight weeks after AMDV inoculation. Gross pathology revealed few and inconsistent findings mainly associated with liver, spleen and kidney. Primarily, infiltrations of mononuclear cells in liver, kidney and brain, reduced density of lymphocytes and increased numbers of plasma cells in lymph node

and spleen was observed. Natural infection, as occurred in the sentinel sapphire mink progressed similar to the experimentally inoculated mink.

The observed histopathology substantiates AMDV infection and no correlation to time of inoculation was found. The study confirms that diagnosing AMDV infection requires serology or PCR or ideally a combination of the two. The histopathological findings of the Sæby/DEN/799.1/05 AMDV strain resembles findings with other AMDV strains. This work has been published in details in Acta Vet Scand 2016, 58:35.

Jensen, TH., Chriél, M., Hansen, MS. 2018. Histological changes after experimental infection with Aleutian mink disease virus. Annual report 2017, 77-82. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Keywords Aleutian mink disease virus (AMDV); kronisk eksperimentel infektion, histopatologi, plasmacytose

Indledning

De fleste plasmacytose inficerede mink udvikler en subklinisk infektion, hvilket ikke er veldokumenteret med nyere AMDV stammer. Subklinisk AMDV inficerede mink, altså mink uden tydelige sygdomstegn, udgør en stor risiko for at smitte ikke-inficerede minkgårde. Tidligere studier af AMDV histopatologi involverede ældre stammer af AMDV med fokus på specifikke organer (Johnson et al. 1975, Mori et al. 1994) og ikke sygdomsudviklingen i hele minken. Formålet med dette studie var at beskrive læsionerne og sygdomsudviklingen induceret af en af de mest almindelige cirkulerende danske plasmacytose virus stammer Sæby/DEN/799.1/05 (Christensen et al. 2011). Arbejdshypotesen var at undersøge om en systematisk beskrivelse af kliniske symptomer, patologi og histopatologi kunne blive et redskab til at identificere subklinisk inficerede mink og herved reducerer risikoen for smitte af AMDV fri minkgårde. Dette er en publiceret i detaljer resultaterne publiceret i Acta Vet Scand 2016, 58:35 (Jensen et al. 2016).

Materialer og metoder

Mink

Mink (*Neovison vison*) blev købt fra 2 sjællandske minkgårde i 2010. Minkene (42 brune og 6 safir) var testet negative for antistoffer mod AMDV med modstrømsimmunoelktroforese (CIEP) før de blev indsat på forsøgsdyrsfaciliteterne. Til et kort eksperiment på 1 måned indgik 12 et år gamle brune minkhunner. Til et kronisk smitteforsøg (se Jensen et al. 2014) indgik 15 brune og 3 safir hunner i alderen 5 måneder samt et tilsvarende antal hunner af begge farvetyper i alderen 17 måneder. Eksperimenterne blev udført i henhold til Forsøgsdyrstilsynets tilladelse (nr. 2009/561-1755).

Minkene blev indhuset individuelt i fire isolationsrum designet til mink forsøg med 12 standard minkbure i en række i hvert rum. Minkene blev fodret med standard minkfoder. Ved ankomst til forsøgsdyrsstalden blev minkene vurderet klinisk raske og akklimatiserede i 2 dage før inokulation med AMDV organ homogenat (Jensen et al. 2014). Mink, der udviste kliniske symptomer (vægttab, manglende ædelyst, nedsat velbefindende, alvorlige mave- og luftvejslidelser eller urinvejssymptomer, n=3) under forsøget blev aflivet. En brun mink blev aflivet før AMDV inokulation pga. sygdom og indgik derfor ikke i analyserne. To safir mink blev inkluderet i hver gruppe som sentineller dvs. kontrol dyr med mulighed for naturlig smitte fra de inokulerede mink.

Eksperimentel infektion med AMDV

Det korte eksperiment (1 måned) blev udført for at finde den laveste koncentration af AMDV organ homogenat der inducerede infektion. Minkene blev opdelt i 4 grupper med 3 mink i hver. Minkene blev bedøvet med ketamin (10-15 mg/kg intramuskulært (IM)) og xylazin (0,5-1 mg/kg IM), efterfulgt af injektion i bughulen af 1 ml AMDV organ homogenat ufortyndet (gr. 1) fortyndet i PBS med 4% penicillin/streptomycin 1:100 (gr. 2), 1:1.000 (gr. 3) eller 1:10.000 (gr. 4). Homogenatet bestod af milte fra mink, der var naturligt smittet med AMDV Saeby/DEN/799.1/05 (Christensen et al. 2011), som beskrevet tidligere (Jensen et al. 2014). Minkene blev observeret dagligt og klinisk evalueret med en score 1-3 i forhold til: a) generel tilstand, b) respiration, c) appetit og d) fæces. Blodprøver, fæces og næse-svælg svabere blev udtaget ugentligt.

I det korte eksperiment blev en mink fra hver af de 4 grupper aflivet 2 uger efter AMDV inokulation. De resterende 8 mink blev aflivet 4 uger efter AMDV inokulation. Alle mink blev først bedøvet med ketamin/xylazin og dernæst aflivet med intracardiel injektion af pentobarbital (140 mg/kg). Minkene blev obduceret og organerne evalueret makroskopisk, og stykker heraf gemt ved -80°C. En hunmink fødte 2 hvalpe 12 dage efter AMDV inokulation. Hvalpene blev aflivet efter 3 uger, hvor der blev taget næse-svælg svabere, samt prøver af lever og lunge.

Den laveste fortynding af AMDV inokulations materialet, som sikrede AMDV infektion var 1:10.000. Denne fortynding blev anvendt i det 6 måneders lange forsøg, hvor 29 brune hunner blev inokuleret intraperitonealt som beskrevet detaljeret af Jensen et al. 2016. Minkene blev aflivet efter 8 uger (11 mink), 16 uger (12 mink) og 24 uger (12 mink).

Ved obduktion blev der udtaget prøver fra: lunge, milt, lever, tarm, tarm lymfeknude, nyre og hjerne. Desuden blev der udtaget knoglemarv fra minkene der indgik i korttidsforsøget.

Forandringer i lunge, lever, tarm, nyre og hjerne blev scoret efter graden af infiltration af mononukleære celler, som følgende: mistænkelig, dvs. en lille fokal infiltration; mild dvs. få og små infiltrationer; moderat, dvs. flere små eller få spredte infiltrationer; eller massiv, dvs. multifokale spredte infiltrationer. Milten blev evalueret histologisk ud fra følgende typiske AMDV forandringer: aktivering af lymfoide follikler med nekrotiske celler og makrofager; og nedsat celletæthed eller manglende lymfoide celler i lymfoide follikler og/eller diffust i milten. I tarm lymfeknuden blev følgende forandringer beskrevet: nedsat celletæthed af lymfoide celler i lymfoide follikler, nedsat celletæthed af lymfocytter i marven og forøget antal plasma celler i marven og sinus, samt forøget antal makrofager i marven.

Resultater

Kort eksperimentel infektion med AMDV

Alle mink i undersøgelsen dannede antistoffer mod AMDV. Resultaterne af det korte forsøg var: antistof dannelse 2-3 uger efter infektion (tabel 1); AMDV DNA udskillelse i fæces 2-4 uger efter infektion og i næse-svælg svaber 3 uger efter infektion (tabel 1); makroskopiske og histologiske forandringer i leveren efter 2 uger, og tillige i milten efter 4 uger (tabel 2 og 3); D) AMDV DNA i organer både 2 og 4 uger efter infektion (tabel 3). Der blev ikke observeret kliniske symptomer. Næsten alle mink havde histologiske forandringer i de fleste af de undersøgte organer 4 uger efter inokulation (tabel 3).

Kronisk eksperimentel infektion med AMDV i 6 måneder

Generelt var minkene klinisk raske i 92.7% af de observerede mink dage (hver dag blev hver mink observeret i forhold til det totale antal af mink i eksperimentet). De 7.3% mink dage hvor der blev observeret kliniske symptomer var primært de første 8 uger dvs. september og oktober. De kliniske symptomer blev hovedsageligt set hos mink i god foderstand (82%), der enten havde blød- eller unormal farvet fæces (50.2%) eller nedsat appetit (16.3%). Hovedparten af de mink der ikke var i god foderstand havde lavere appetit (30 ud af 50 mink dage). Der blev ikke observeret blod i urinen.

Obduktionerne viste kun få organ forandringer primært lys lever og forstørret milt 6-16 uger efter AMDV inokulation (Tabel 2). To mink, der blev aflivet 24 uger efter AMDV inokulation havde enkelte hvide stikkelhår.

Der blev fundet histologiske forandringer, typiske for AMDV infektion, i alle organer fra minkene i det kroniske forsøg som vist i tabel 3 og figur 1. Minkene havde primært histologiske læsioner i lever og nyre og i mindre grad i lunger og tarm. Omfanget af læsioner og antallet af påvirkede organer varierede mellem grupperne af dyr og der var ikke signifikant forskel i forsøgsperioden i antallet af histopatologiske forandringer.

TABEL 1 EKSPERIMENTEL INFEKTION (1 MÅNED) MED FORSKELLIGE FORTYNDINGER AF PLASMACYTOSE (AMDV) ORGAN HOMOGENAT

FORTYNDING AF AMDV ORGAN	ANTISTOFFER (CIEP)		VIRUS UDSKILLELSE NÆSE-SVÆLG		VIRUS UDSKILLELSE FÆCES		
	U2	U3+4*	U3	U4	U2	U3	U4
1:10.000	1/3	2/2	0/2	0/2	1/3	2/2	2/2
1:1.000	2/3	2/2	1/2	2/2	2/3	2/2	2/2
1:100	2/3	2/2	1/2	1/2	1/3	2/2	2/2
Ufortyndet	3/3	2/2	0/2	0/2	2/3	0/2	1/2**
Total	8/12	8/8	2/8	3/8	6/12	6/8	7/8
Hvalpe (n=2)	-	-	-	2/2	-	-	-

ANTAL AF AMDV DNA POSITIVE MINK EFTER AMDV INOKULATION UD AF DET TOTALE ANTAL MINK
CIEP - MODSTRØMSIMMUNOELEKTROFORESE

U - UGE

- IKKE TESTET

* UGE 3 OG 4 BLEV SLÅET SAMMEN FORDI RESULTATERNE IKKE VAR SIGNIFIKANT FORSKELLIGE

** REKTAL SVABER I STEDET FOR FÆCESPRØVE

TABEL 2 OBDUKTIONS FUND AF MINK INOKULERET MED PLASMACYTOSE ORGAN HOMOGENAT

UGER EFTER AMDV INOKULATION	MINK MED SYNLIGE ORGANFORANDRINGER			
	PELS ¹	LEVER ²	MILT ³	NYRE ⁴
2 uger	0	4/4	0/4	0/4
4 uger	0	2/8	6/8	0/8
8 uger	0	9/11	7/11	4/11
16 uger	0	10/12	6/12	1/12
24 uger	2/12	3/12	2/12	0/12

¹ HVIDE STIKKELHÅR

² LYS LEVER/SVULLEN LEVER

³ FORSTØRRET MILT

⁴ LYS NYREBARK/FORSTØRRET NYRE

TABEL 3 PLASMACYTOSE VIRUS (AMDV) DNA FUNDET MED PCR OG HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER I MINK INOKULERET MED AMDV

ORGANER	ANTAL MINK MED AMDV POSITIVE ORGANER						ANTAL MINK MED HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER				
	2 UGER	4 UGER	HVALPE *	8 UGER	16 UGER	24 UGER	2 UGER	4 UGER	8 UGER	16 UGER	20 UGER
Milt	4/4	8/8	2/2	9/9	9/10	10/10	4/4	8/8	3/9	8/10	4/10
Lymfeknude	3/4	8/8	2/2	9/9	8/10	10/10	3/4	7/7	6/9	5/9	7/9
Lever	4/4	8/8	2/2	4/9	4/10	3/10	4/4	8/8	9/9	8/9	7/9
Lunge	2/4	6/8	2/2	7/9	5/10	6/10	0/4	4/8	4/9	4/10	0/10
Nyre	3/4	8/8	2/2	5/9	5/10	7/10	0/4	6/8	6/9	8/10	6/10
Tarm	3/4	7/8	2/2	7/9	6/10	6/10	0/4	0/7	3/7	0/10	1/10
Hjerne	2/4	6/8	-	3/9	4/10	3/10	1/4	5/8	7/9	5/10	6/10
Knoglemarv	3/4	8/8	-	5/9	4/10	4/10	-	-	-	-	-

* TO MINKHVALPE BLEV FØDT 12 DAGE INDE I EKSPERIMENTET. ORGANERNE FRA DEM BLEV TESTET MED PCR 3 UGER SENERE

- IKKE TESTET

GRUPPERNE AF MINK INOKULERET MED FORSKELLIGE AMDV FORTYNDINGER BLEV SAMLET I TABELLEN FORDI RESULTATERNE AF DE SMÅ GRUPPER IKKE VAR SIGNIFIKANT FORSKELLIGE

Diskussion

I korttids-studiet på en måned udviklede minkene AMDV antistoffer 2-4 uger efter AMDV inokulation uanset inokulations dosis. Minkene udskilte AMDV DNA i fæces ligesom i det kroniske studie (Jensen et al. 2014). AMDV DNA udskillelse i næse-svælg sekret blev påvist i mink inokuleret med 1:1.000 og 1:100 fortynding, hvilket bekræfter den tidligere observerede inkonsistente udskillelse af AMDV DNA (Eklund et al. 1968; Jensen et al. 2014). AMDV DNA kunne findes i alle undersøgte organer 2-4 uger efter AMDV inokulation, hvilket svarer til et andet studie hvor AMDV DNA blev fundet i milt, lymfeknuder, knoglemarv, lever, nyre, lunger og tarme 10 dage efter inokulation med en canadisk AMDV stamme (Farid et al. 2015).

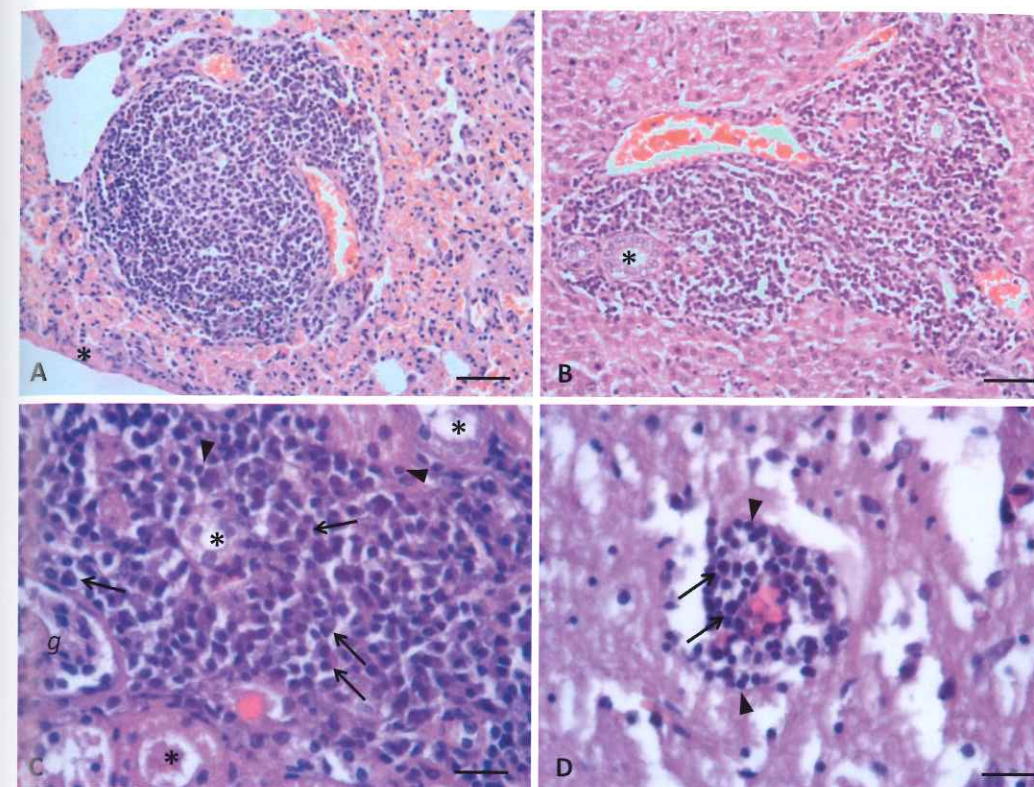
De kliniske symptomer der blev observeret i dette studie var meget få, idet minkene i 93% af alle observationer var i god almen tilstand. Dette er set tilsvarende i ældre eksperimentelle studier (Porter et al. 1980; Jackson et al. 1996a; Oie et al. 1996). De første diffuse symptomer med nedsat appetit blev også observeret tidligere (Eklund et al. 1968). På minkgårde med kronisk AMDV infektion er de kliniske symptomer og mortalitet generelt begrænset (Jackson et al. 1996b). Dette er formentlig årsagen til, at man kan avle mink til trods for AMDV infektion i besætningen. Det er naturligvis ikke at ønske fordi det nedsætter dyrevelfærden og kan forårsage store produktionsmæs-

sige tab samt er anledning til alvorlig smittekilde for andre besætninger hvor en akut infektion kan have fatale konsekvenser. Bemærkelsesværdigt blev symptomerne primært observeret indenfor de første 2 måneder af det kroniske forsøg, september og oktober.

Der blev ikke observeret central nervøse (CNS) symptomer til trods for infiltrationer af mononukleære celler i hjerne og hjernebinder. Dette er også beskrevet i et irsk studie, hvor mink ikke havde kliniske symptomer til trods for fund af non-suppurativ meningoencephalitis (betændelse i hjerne og hjernebinder) (Jahns et al. 2010), mens et amerikansk studie har observeret naturligt smittede mink med CNS symptomer og non-suppurativ meningoencephalitis (Dyer et al. 2000). Fraværet af CNS symptomer i denne undersøgelse kunne skyldes, at minkene i dette studie blev aflivet så snart de viste kliniske symptomer og dermed før eventuelle CNS symptomer fremkom/vil optræde.

Obduktionsfundene var sammenlignelige uanset tid efter inokulation med AMDV, med undtagelse af nyreforandringerne der blev observeret 8 uger efter inokulation og de hvide stikkelhår, der blev observeret 24 uger efter inokulation. Overordnet fandtes kun få makroskopiske forandringer, hvilket også er fundet tidligere (Valdovska og Pilmane 2011) og det hænger sandsynligvis sammen med de få og uspecifikke kliniske observationer.

FIGUR 1 HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER I BRUNE MINK EKSPERIMENTELT INOKULERET MED AMDV SAEBY/DEN/799.1/05. HEMATOXYLIN OG EOSIN FARVNING. A) MASSIV INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER OMKRING BLØDKAR I LUNGEN 8 UGER EFTER INOKULATION. LUNGEHINDE (*). MÅLESTOK 50 MY. B) MASSIV INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER I LEVEREN I FORBINDELSE MED GALDEGANGE 4 UGER EFTER INOKULATION. GALDEGANG (*). MÅLESTOK 50 MY. C) MASSIV INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER I NYREBARKEN 16 UGER EFTER INOKULATION. PLASMACELLER (PIL), LYMFOCYTER (PILESPIDS), NYRETUBULI (*), KARNØGLE (G). MÅLESTOK 20 MY. D) MODERAT INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER OMKRING BLØDKAR I STORHJERNEN 16 UGER EFTER AMDV INOKULATION. PLASMACELLER (PIL), LYMFOCYTER (PILESPIDS). MÅLESTOK 20 MY.



De AMDV associerede histologiske forandringer set i dette studie er forenelige med tidligere beskrevne forandringer (Dyer et al. 2000; Jahns et al. 2010; Henson et al. 1976; Valdovska og Pilmane 2011). De tidligste histologiske forandringer blev observeret i leveren 2 uger efter inokulation, hvilket også er vist af andre (Henson et al. 1976). Dette kan muligvis skyldes den intraperitoneale inokulations rute hvor virus når leveren før f.eks. lunger eller nyre som er dækket af fedtvæv. Der var ingen AMDV relaterede forandringer i lunge eller nyre i minkene 2 uger efter AMDV inokulation, men disse organer udviklede forandringer senere i infektionsforsøget. Leveren var det organ der hyppigst havde forandringer i alle grupper af mink og dernæst de øvrige organer i nævnte rækkefølge - nyre, hjerne, lunge og tarm. Dette er i modsætning til forekomsten af AMDV DNA i organer, hvor tarmene hyppigere var positive sammenlignet med leveren (Jensen et al. 2014).

I korttids forsøget blev de histologiske forandringer set hyppigere og mere udtalt i minkene aflivet 4 uger efter AMDV inokulation sammenlignet med mink aflivet efter 2 uger, sandsynligvis på grund af at det tager tid at udvikle forandringerne. Der sås en tendens (men ikke statistisk signifikant) til at de histologiske forandringer observeret blev færre fra uge 8 til uge 24 efter inokulation med undtagelse af hud/pels forandringerne.

Generelt er histologi et vigtigt og følsomt redskab til mistanke udredning og diagnostik af plasmacytose, men den endelige diagnose skal altid bekræftes med PCR og/eller antistof påvisning.

Konklusion

AMDV stammen Saeby/DEN/799.1/05 forårsagede få kliniske symptomer og ingen dødelighed efter eksperimentel infektion. De kliniske symptomer var primært nedsat ædelyst og blød og/eller misfarvet fæces. Histologiske læsioner kunne ses i alle organer, men med højest forekomst i lever, nyre og hjerne. Der kunne ikke påvises et præcist tidspunkt for fremkomst af symptomer eller læsioner i forhold til smitte tidspunktet, ej heller kunne særlige (patognomoniske) plasmacytose forandringer identificeres. Generelt er disse fund i overensstemmelse med tidligere studier af AMDV og understreger det uforudsigelige sygdomsforløb og behovet for supplerende og mere sensitive test som PCR og serologi for at bekræfte AMDV diagnosen.

Tak til

Dansk Pelsdyravler Forskningsfond for økonomisk støtte til projektet. Forsøgsdyrs personalet på Lindholm, DTU-Veterinærinstituttet. Laboranterne på DTU-Veterinærinstituttet i Aarhus og Annie Ravn Pedersen, DTU-Veterinærinstituttet København. Jens Nielsen og Åse Uttenthal.

TABEL 3 PLASMACYTOSE VIRUS (AMDV) DNA FUNDET MED PCR OG HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER I MINK INOKULERET MED AMDV

ORGANER	ANTAL MINK MED AMDV POSITIVE ORGANER						ANTAL MINK MED HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER				
	2 UGER	4 UGER	HVALPE *	8 UGER	16 UGER	24 UGER	2 UGER	4 UGER	8 UGER	16 UGER	20 UGER
Milt	4/4	8/8	2/2	9/9	9/10	10/10	4/4	8/8	3/9	8/10	4/10
Lymfeknude	3/4	8/8	2/2	9/9	8/10	10/10	3/4	7/7	6/9	5/9	7/9
Lever	4/4	8/8	2/2	4/9	4/10	3/10	4/4	8/8	9/9	8/9	7/9
Lunge	2/4	6/8	2/2	7/9	5/10	6/10	0/4	4/8	4/9	4/10	0/10
Nyre	3/4	8/8	2/2	5/9	5/10	7/10	0/4	6/8	6/9	8/10	6/10
Tarm	3/4	7/8	2/2	7/9	6/10	6/10	0/4	0/7	3/7	0/10	1/10
Hjerne	2/4	6/8	-	3/9	4/10	3/10	1/4	5/8	7/9	5/10	6/10
Knoglemarv	3/4	8/8	-	5/9	4/10	4/10	-	-	-	-	-

* TO MINKHVALPE BLEV FØDT 12 DAGE INDE I EKSPERIMENTET. ORGANERNE FRA DEM BLEV TESTET MED PCR 3 UGER SENERE

- IKKE TESTET

GRUPPERNE AF MINK INOKULERET MED FORSKELLIGE AMDV FORTYNDINGER BLEV SAMLET I TABELLEN FORDI RESULTATERNE AF DE SMÅ GRUPPER IKKE VAR SIGNIFIKANT FORSKELLIGE

Diskussion

I korttids-studiet på en måned udviklede minkene AMDV antistoffer 2-4 uger efter AMDV inokulation uanset inokulations dosis. Minkene udskilte AMDV DNA i fæces ligesom i det kroniske studie [Jensen et al. 2014]. AMDV DNA udskillelse i næse-svælg sekret blev påvist i mink inokuleret med 1:1.000 og 1:100 fortynding, hvilket bekræfter den tidligere observerede inkonsistente udskillelse af AMDV DNA [Eklund et al. 1968; Jensen et al. 2014]. AMDV DNA kunne findes i alle undersøgte organer 2-4 uger efter AMDV inokulation, hvilket svarer til et andet studie hvor AMDV DNA blev fundet i milt, lymfeknuder, knoglemarv, lever, nyre, lunger og tarme 10 dage efter inokulation med en canadisk AMDV stamme [Farid et al. 2015].

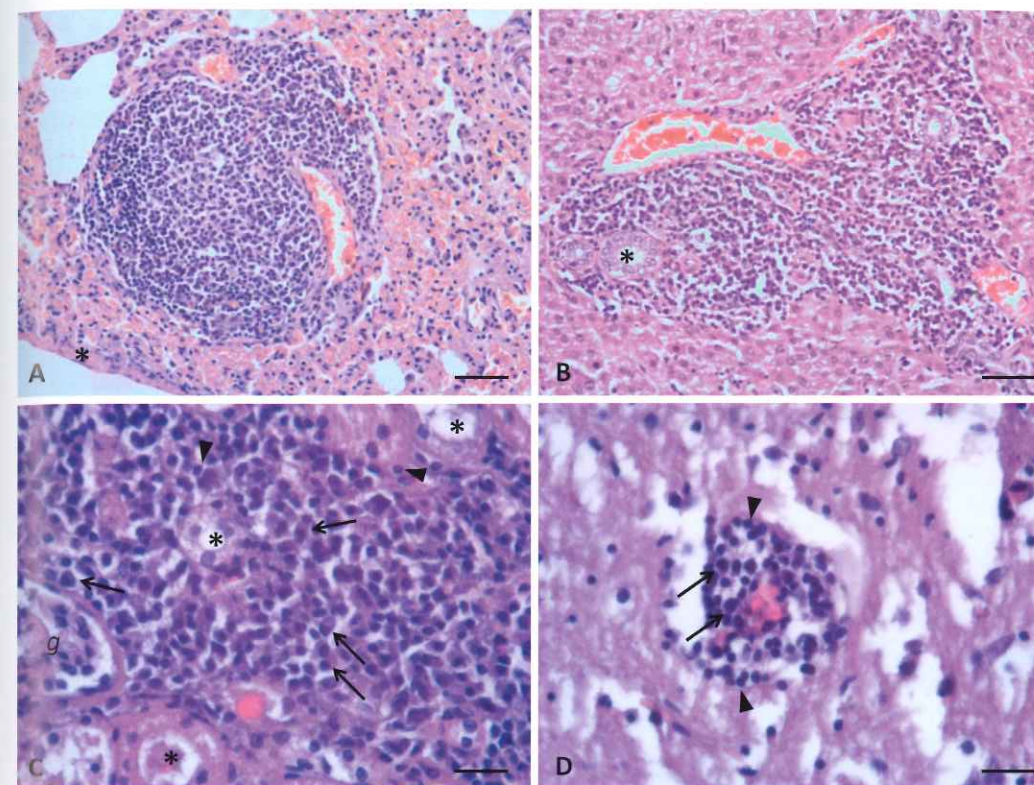
De kliniske symptomer der blev observeret i dette studie var meget få, idet minkene i 93% af alle observationer var i god almen tilstand. Dette er set tilsvarende i ældre eksperimentelle studier [Porter et al. 1980; Jackson et al. 1996a; Oie et al. 1996]. De første diffuse symptomer med nedsat appetit blev også observeret tidligere [Eklund et al. 1968]. På minkgårde med kronisk AMDV infektion er de kliniske symptomer og mortalitet generelt begrænset [Jackson et al. 1996b]. Dette er formentlig årsagen til, at man kan avle mink til trods for AMDV infektion i besætningen. Det er naturligvis ikke at ønske fordi det nedsætter dyrevelfærden og kan forårsage store produktionsmæs-

sige tab samt er anledning til alvorlig smittekilde for andre besætninger hvor en akut infektion kan have fatale konsekvenser. Bemærkelsesværdigt blev symptomerne primært observeret indenfor de første 2 måneder af det kroniske forsøg, september og oktober.

Der blev ikke observeret central nervøse (CNS) symptomer til trods for infiltrationer af mononukleære celler i hjerne og hjernebinder. Dette er også beskrevet i et irsk studie, hvor mink ikke havde kliniske symptomer til trods for fund af non-suppurativ meningoencephalitis (betændelse i hjerne og hjernebinder) [Jahns et al. 2010], mens et amerikansk studie har observeret naturligt smittede mink med CNS symptomer og non-suppurativ meningoencephalitis [Dyer et al. 2000]. Fraværet af CNS symptomer i denne undersøgelse kunne skyldes, at minkene i dette studie blev aflivet så snart de viste kliniske symptomer og dermed før eventuelle CNS symptomer fremkom/vil optræde.

Obduktionsfundene var sammenlignelige uanset tid efter inokulation med AMDV, med undtagelse af nyreforandringerne der blev observeret 8 uger efter inokulation og de hvide stikkelhår, der blev observeret 24 uger efter inokulation. Overordnet fandtes kun få makroskopiske forandringer, hvilket også er fundet tidligere [Valdovska og Pilmane 2011] og det hænger sandsynligvis sammen med de få og uspecifikke kliniske observationer.

FIGUR 1 HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER I BRUNE MINK EKSPERIMENTELT INOKULERET MED AMDV SAEBY/DEN/799.1/05. HEMATOXYLIN OG EOSIN FÆRNING. A) MASSIV INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER OMKRING BLODKAR I LUNGEN 8 UGER EFTER INOKULATION. LUNGEHINDE (*). MÅLESTOK 50 MY. B) MASSIV INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER I LEVEREN I FORBINDELSE MED GALDEGANGE 4 UGER EFTER INOKULATION. GALDEGANG (*). MÅLESTOK 50 MY. C) MASSIV INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER I NYREBARKEN 16 UGER EFTER INOKULATION. PLASMACELLER (PIL), LYMFOCYTER (PILESPIDS), NYRETUBULI (*), KARNØGLE (G). MÅLESTOK 20 MY. D) MODERAT INFILTRATION AF MONONUKLEÆRE CELLER OMKRING BLODKAR I STORHJERNEN 16 UGER EFTER AMDV INOKULATION. PLASMACELLER (PIL), LYMFOCYTER (PILESPIDS). MÅLESTOK 20 MY.



De AMDV associerede histologiske forandringer set i dette studie er forenelige med tidligere beskrevne forandringer [Dyer et al. 2000; Jahns et al. 2010; Henson et al. 1976; Valdovska og Pilmane 2011]. De tidligste histologiske forandringer blev observeret i leveren 2 uger efter inokulation, hvilket også er vist af andre [Henson et al. 1976]. Dette kan muligvis skyldes den intraperitoneale inokulations rute hvor virus når leveren før f.eks. lunger eller nyre som er dækket af fedtvæv. Der var ingen AMDV relaterede forandringer i lunge eller nyre i minkene 2 uger efter AMDV inokulation, men disse organer udviklede forandringer senere i infektionsforsøget. Leveren var det organ der hyppigst havde forandringer i alle grupper af mink og dernæst de øvrige organer i nævnte rækkefølge - nyre, hjerne, lunge og tarm. Dette er i modsætning til forekomsten af AMDV DNA i organer, hvor tarmene hyppigere var positive sammenlignet med leveren [Jensen et al. 2014].

I korttids forsøget blev de histologiske forandringer set hyppigere og mere udtalt i minkene aflivet 4 uger efter AMDV inokulation sammenlignet med mink aflivet efter 2 uger, sandsynligvis på grund af at det tager tid at udvikle forandringerne. Der sås en tendens (men ikke statistisk signifikant) til at de histologiske forandringer observeret blev færre fra uge 8 til uge 24 efter inokulation med undtagelse af hud/pels forandringerne.

Generelt er histologi et vigtigt og følsomt redskab til mistanke udredning og diagnostik af plasmacytose, men den endelige diagnose skal altid bekræftes med PCR og/eller antistof påvisning.

Konklusion

AMDV stammen Saeby/DEN/799.1/05 forårsagede få kliniske symptomer og ingen dødelighed efter eksperimentel infektion. De kliniske symptomer var primært nedsat ædelyst og blød og/eller misfarvet fæces. Histologiske læsioner kunne ses i alle organer, men med højest forekomst i lever, nyre og hjerne. Der kunne ikke påvises et præcist tidspunkt for fremkomst af symptomer eller læsioner i forhold til smitte tidspunktet, ej heller kunne særlige (patognomoniske) plasmacytose forandringer identificeres. Generelt er disse fund i overensstemmelse med tidligere studier af AMDV og understreger det uforudsigelige sygdomsforløb og behovet for supplerende og mere sensitive test som PCR og serologi for at bekræfte AMDV diagnosen.

Tak til

Dansk Pelsdyravlerv Forskningsfond for økonomisk støtte til projektet. Forsøgsdyrs personalet på Lindholm, DTU-Veterinærinstituttet. Laboranterne på DTU-Veterinærinstituttet i Aarhus og Annie Ravn Pedersen, DTU-Veterinærinstituttet København. Jens Nielsen og Åse Uttenthal.

Referencer

- Christensen L.S., Gram-Hansen L., Chriél M. & Jensen T.H. 2011. Diversity and stability of Aleutian mink disease virus during bottleneck transitions resulting from eradication in domestic mink in Denmark. *Vet Microbiol.* 149:64-71.
- Dyer N.W., Ching B. & Bloom M.E. 2000. Nonsuppurative meningoencephalitis associated with Aleutian mink disease parvovirus infection in ranch mink. *J Vet Diagn Invest.* 2000;12:159-162.
- Eklund C.M., Hadlow W.J., Kennedy R.C., Boyle C.C. & Jackson T.A. 1968. Aleutian disease of mink: properties of the etiologic agent and the host responses. *J Infect Dis.* 118:510-526.
- Farid A.H., Zillig M.L., Finley G.G. & Smith G.C. 2012. Prevalence of the Aleutian mink disease virus infection in Nova Scotia, Canada. *Prev Vet Med.* 106:332-338.
- Farid A.H., Hussain I. & Arju I. 2015. Detection of Aleutian mink disease virus DNA and antiviral antibodies in American mink (*Neovison vison*) 10 days postinoculation. *J Vet Diagn Invest.* 27:287-297.
- Hadlow W.J., Race R.E. & Kennedy R.C. 1983. Comparative pathogenicity of four strains of Aleutian disease virus for pastel and sapphire mink. *Infect Immun.* 41:1016-1023.
- Henson J.B., Gorham J.R., McGuire T.C. & Crawford TB. 1976. Pathology and pathogenesis of Aleutian disease. *Front Biol.* 44:175-205.
- Jackson M.K., Ellis L.C., Morrey J.D., Li Z.Z. & Barnard DL. 1996a. Progression of Aleutian disease in natural and experimentally induced infections of mink. *Am J Vet Res.* 57:1753-1758.
- Jackson M.K., Winslow S.G., Dockery L.D., Jones J.K. & Sisson DV. 1996b. Investigation of an outbreak of Aleutian disease on a commercial mink ranch. *Am J Vet Res.* 57:1706-1710.
- Jahns H., Daly P., McElroy MC., Sammin DJ., Bassett HF., Callanan JJ. 2010. Neuropathologic features of Aleutian disease in farmed mink in Ireland and molecular characterization of Aleutian mink disease virus detected in brain tissues. *J. Vet Diagn Invest.* 22:101-105.
- Jensen T.H., Chriél M. & Hansen M.S. 2016. Progression of experimental chronic Aleutian mink disease virus infection. *Acta Veterinaria Scandinavica* (Online), Vol. 58, Nr. 35: 1-10.
- Jensen T.H., Hammer A.S. & Chriél M. 2014. Monitoring chronic infection with a field strain of Aleutian mink disease virus. *Vet Microbiol.* 168:420-427.
- Johnson M.I., Henson J.B. & Gorham J.R. 1975. The influence of genotype on the development of glomerular lesions in mink with Aleutian disease virus. *Am J Pathol.* 81:321-336.
- Mori S., Nose M., Miyazawa M., Kyogoku M., Wolfinbarger J.B. & Bloom M.E. 1994. Interstitial nephritis in Aleutian mink disease. Possible role of cell-mediated immunity against virus-infected tubular epithelial cells. *Am J Pathol.* 144:1326-1333.
- Oie K.L., Durrant G., Wolfinbarger J.B., Martin D., Costello F. & Perryman S. 1996. The relationship between capsid protein (VP2) sequence and pathogenicity of Aleutian mink disease parvovirus (ADV): a possible role for raccoons in the transmission of ADV infections. *J Virol.* 70:852-861.
- Porter D.D., Larsen A.E. & Porter H.G. 1980. Aleutian disease of mink. *Adv Immunol.* 29:261-286.
- Valdovska A. & Pilmane M. 2011. Histopathologic and immunohistochemical lesions in liver of mink infected with Aleutian disease virus. *Pol J Vet Sci.* 14: 69-76. ✕